



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁷ : A01N 37/44	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/47046 (43) Date de publication internationale: 17 août 2000 (17.08.00)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR00/00370</p> <p>(22) Date de dépôt international: 15 février 2000 (15.02.00)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 99/01799 15 février 1999 (15.02.99) FR</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LABORA-TOIRES GOEMAR S.A. [FR/FR]; ZAC de la Madeleine, F-35400 Saint Malo (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): YVIN, Jean, Claude [FR/FR]; 3, rue Gabriel Degrés, F-35400 Saint Malo (FR). CRUZ, Florence [FR/FR]; 7, rue de la Loutre, F-35400 Saint Malo (FR). LE GOFFIC, François [FR/FR]; Laboratoires Goemar S.A., ZAC de la Madeleine, F-35400 Saint Malo (FR). TRAN THANH, Kiem, Ngoc [FR/FR]; 104, avenue du Général Leclerc, F-91190 Gif sur Yvette (FR).</p> <p>(74) Mandataire: TOUATI, Catherine; Cabinet Plasseraud, 84, rue d'Amsterdam, F-75440 Paris Cedex 09 (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i></p>
<p>(54) Title: METHOD FOR INCREASING THE YIELD OF CROP PLANTS PRODUCE BY STIMULATING GERMINATION OF POLLEN GRAINS</p> <p>(54) Titre: PROCEDE POUR AUGMENTER LE RENDEMENT DES RECOLTES DES PLANTES AGRONOMIQUES PAR STIMULATION DE LA GERMINATION DES GRAINS DE POLLEN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention concerns the use, in particular by foliar application, of an efficient amount of at least a compound comprising the betaine or betainoid structure for increasing the yield of crop plants by stimulating the germination of pollen grains.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>L'invention a pour objet l'utilisation, notamment foliaire, d'une quantité efficace d'au moins un composé comportant la structure bêtaïne ou bêtaïnoïde pour augmenter le rendement des récoltes des plantes agronomiques par stimulation de la germination des grains de pollen.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

**PROCÉDÉ POUR AUGMENTER LE RENDEMENT DES RÉCOLTES DES
PLANTES AGRONOMIQUES PAR STIMULATION DE LA GERMINATION DES
GRAINS DE POLLEN**

5 L'invention a pour objet un procédé destiné à augmenter le rendement des récoltes des plantes agronomiques.

 L'augmentation du rendement des récoltes des plantes agronomiques est une préoccupation constante de l'exploitant agricole.

10 D'un point de vue au moins théorique, il existe diverses voies pour augmenter ce rendement et en particulier il est évident pour l'homme du métier qu'il devrait être possible d'y parvenir en agissant sur la fécondation et plus particulièrement sur la germination des grains de pollen en
15 stimulant cette dernière.

 On rappelle que les grains de pollen sont transportés, lors de la pollinisation, sur les fleurs et déposés à la surface réceptrice du stigmate.

 Lorsqu'il y a compatibilité pollinique, les grains de
20 pollen germent; ce phénomène se traduit par la différenciation d'un tube pollinique qui chemine à l'intérieur du style, qui est un organe longiforme surmontant l'ovaire et se terminant par le stigmate, jusqu'au sac embryonnaire dans lequel se produit la
25 fécondation.

 Il est bien connu (voir par exemple la page 405 de l'ouvrage BIOLOGIE VÉGÉTALE, "Croissance Morphogénèse Reproduction" par P. Champagnat, P. Ozenda et L. Baillaud, paru chez Masson et Cie, Editeurs, édition 1969) que la
30 longévité du grain de pollen, une fois la pollinisation réalisée, est faible et ne dépasse généralement pas une durée de 24 heures. Et lorsque la germination d'un grain de pollen donné n'a pas lieu pendant cette courte durée, la fécondation qu'il aurait pu assurer ne se produit pas.

35 L'invention a donc pour but, surtout, de fournir des

moyens propres à stimuler la germination des grains de pollen.

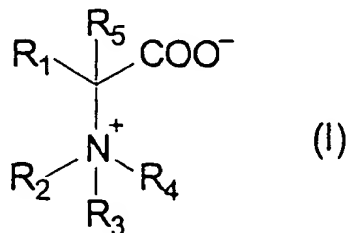
Et, la Société Demanderesse, à l'issue de recherches approfondies portant au départ sur des extraits d'algues
5 brunes essentiellement à base de fractions oligosaccharidiques, a trouvé non seulement que lesdits extraits d'algues favorisaient la germination des grains de pollen grâce en partie à la présence desdites fractions oligosaccharidiques mais surtout que ces extraits d'algues
10 contenaient en très faible quantité de très nombreux composés comportant la structure bêtaïne parmi lesquels la L-phénylalanine bêtaïne est la plus abondante et pour lesquels une remarquable activité stimulatrice de la germination des grains de pollen a pu être mise en évidence,
15 cette activité étant attribuable à la présence de la structure bêtaïne dans le composé en question; la Société Demanderesse a également pu établir que les composés à structure bêtaïnoïde avaient la même activité stimulatrice.

Il est rappelé que la structure bêtaïne est celle
20 présentée par les dérivés d'amino- ou d'imino-acides comportant un radical azote tétravalent per-méthylé; dans le cas de la structure bêtaïnoïde, l'azote tétravalent est per-alkylé.

L'invention a donc pour objet l'utilisation pour la
25 stimulation de la germination des grains de pollen de plantes agronomiques, d'une quantité efficace d'au moins un composé possédant la structure bêtaïne ou bêtaïnoïde, ledit composé étant différent de la glycine bêtaïne.

Plus particulièrement, l'invention porte sur
30 l'utilisation de composé comportant la structure bêtaïne présentant la formule générale :

35



5 dans laquelle:

- R_1 représente une chaîne latérale d'un α -amino-acide ou d'un α -imino-acide,

- R_2 , R_3 , R_4 représentent des radicaux alkyles identiques ou différents, saturés ou insaturés, ramifiés ou
10 non, comportant de 1 à 16 atomes de carbone et éventuellement un ou des noyaux aromatiques ou hétérocycliques,

- R_5 représente l'atome d'hydrogène ou un radical alkyle saturé ou insaturé, ramifié ou non, comportant de 1 à 5
15 atomes de carbone, ce radical alkyle pouvant porter des fonctions monovalentes notamment des hydroxyles et des halogènes ainsi que des fonctions divalentes, notamment des carbonyles,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 et R_5 , lorsqu'il est différent de H, pris
20 deux à deux, pouvant former des cycles ayant de 3 à 10 chaînons, ces cycles pouvant comporter au moins un hétéroatome.

Selon un mode de réalisation avantageux, le composé comportant la structure bêtaïne ou bêtaïnoïde est représenté
25 par la formule I dans laquelle :

- R_1 représente la chaîne latérale d'un α -amino-acide aromatique choisi dans le groupe comprenant les radicaux phénylalkylène, hydroxyphénylalkylène et indolyl-alkylène ayant de 1 à 5 atomes de carbone, le radical aminopropyle et
30 le radical aminobutyle,

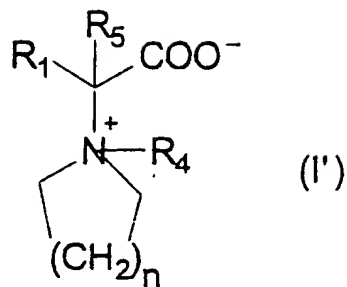
- R_2 , R_3 et R_4 sont des radicaux alkyles identiques ou différents ayant de 1 à 3 atomes de carbone, et

- R_5 représente l'atome d'hydrogène.

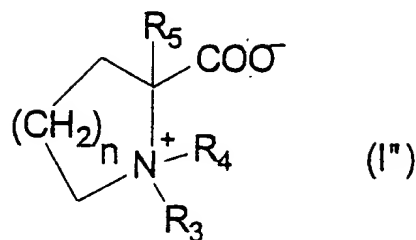
Selon un autre mode de réalisation avantageux, on
35 utilise un composé de formule (I') ou de formule (I'') à

4

structure cyclique :



5



10

15

dans lesquelles:

- n est un nombre entier de 1 et 10,

- R₁, R₃, R₄ et R₅ sont tels que définis en rapport avec la formule (I).

20 Dans la formule (I'), n est de préférence égal à 2 ou à 3 et, dans la formule (I''), n est de préférence égal à 1 ou 2.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, le composé à structure bétaine est choisi dans le groupe comprenant la L-tyrosine bétaine, la L-tryptophane bétaine, la L-lysine bétaine, la L-arginine bétaine, la L-lysine (quaternisée au niveau de l'azote en position 5)-bétaine, ou la L-arginine (quaternisée au niveau d'un azote du résidu guanidine)-bétaine.

30 De façon particulièrement avantageuse, le composé à structure bétaine est la L-phénylalanine bétaine.

Le composé comportant la structure bétaine peut, pour autant qu'il s'agit de la L-phénylalanine bétaine, être obtenu par récupération à partir d'extraits d'algues brunes.

35 Le prix de revient d'un produit ainsi obtenu étant

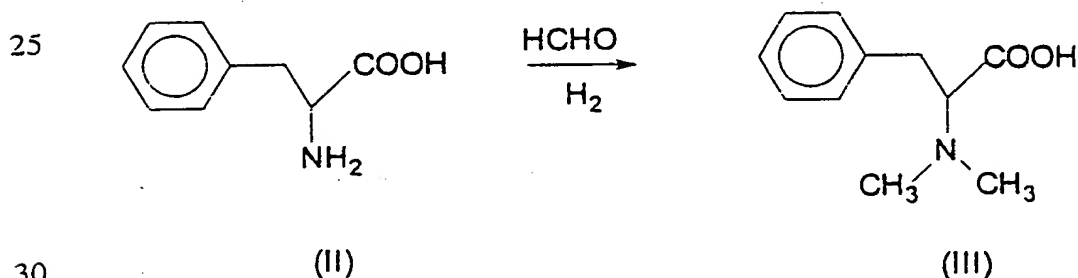
toutefois trop élevé pour une utilisation industrielle en raison des faibles teneurs de départ, la Société Demanderesse a mis au point un procédé de synthèse plus performant que ceux qui existent déjà pour préparer ladite L-phénylalanine bêtaïne.

Il est en effet connu de préparer la L-phényl-alanine bêtaïne par triméthylation de la L-phénylalanine à l'aide d'un excès d'iodure de méthyle. Cependant, ce procédé présente l'inconvénient majeur de mettre en œuvre une grande quantité d'iodure de méthyle qui est un produit onéreux. En outre, ce procédé libère une quantité importante d'iodure. Il est donc nécessaire de séparer le produit final obtenu de ces iodures, classiquement par oxydation à l'aide d'eau oxygénée, ce qui augmente encore le coût de la synthèse.

Or, la Société Demanderesse a trouvé que la L-phénylalanine bêtaïne pouvait être obtenue à l'aide d'un procédé mettant en œuvre des réactifs moins onéreux et nécessitant une purification plus limitée.

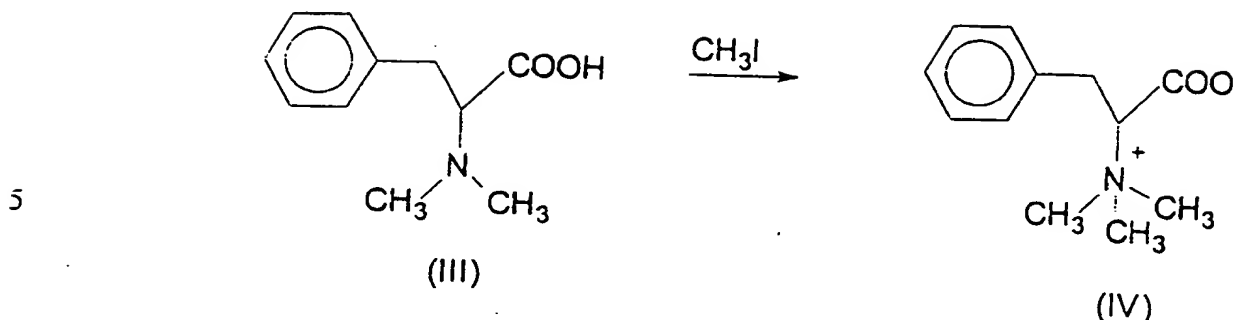
Le procédé de préparation de L-phénylalanine bêtaïne conforme à l'invention comporte:

- une étape de N-diméthylation de la L-phényl-alanine (II) à l'aide d'hydrogène et de formol selon le schéma réactionnel



- une étape de méthylation du produit (III) obtenu à l'étape précédente à l'aide d'iodure de méthyle selon le schéma réactionnel

6



et

10 - une étape de purification de la L-phénylalanine
bétaine (IV) obtenue à l'étape précédente, cette étape de
purification comprenant une recristallisation notamment par
l'éthanol, puis un lavage par de l'acétone puis par de
l'heptane.

15 Dans ce procédé, une seule molécule d'iodure de méthyle
par molécule de produit fini est nécessaire et, par
conséquent, la quantité d'iode I_2 à éliminer en fin de
réaction est moindre.

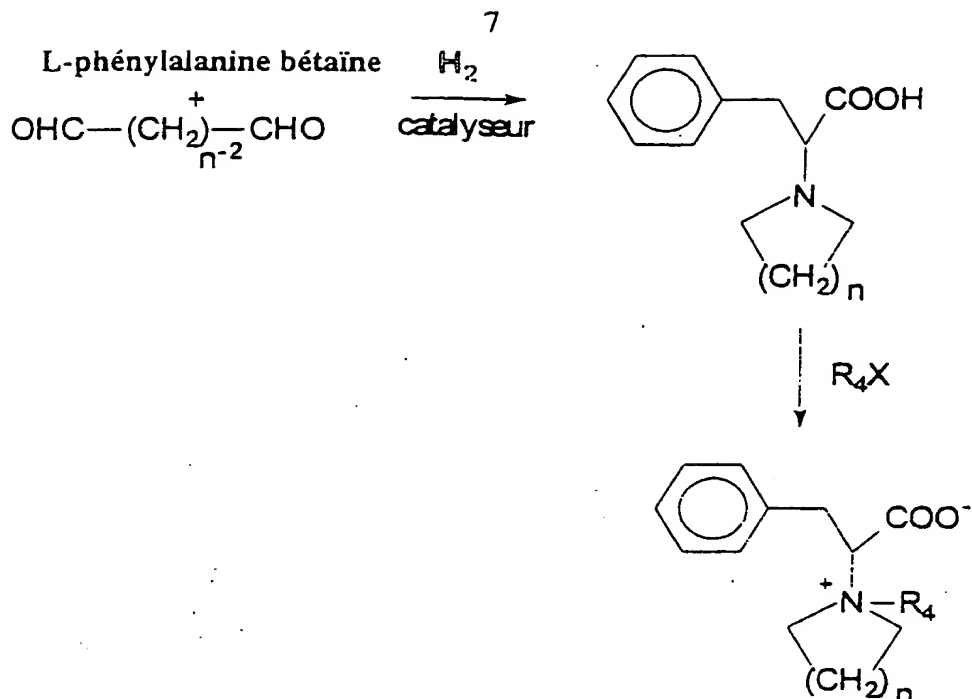
20 Dans le procédé conforme à l'invention, l'étape de
diméthylation peut être effectuée avantageusement dans un
solvant alcoolique tel que le méthanol, et en présence d'un
catalyseur tel que du palladium sur charbon ou l'oxyde de
platine. On préfère, pour des raisons de coûts, utiliser le
palladium sur charbon.

25 Les produits chimiques de l'étape de diméthylation sont
introduits sous gaz inerte (azote, argon) dans le réacteur
dans l'ordre suivant:

- la L-phénylalanine,
- le catalyseur mis en suspension au préalable dans une
solution aqueuse de formaldéhyde et
- 30 - le solvant alcoolique.

On peut préparer les composés de formule (I') dans
laquelle R_1 représente la chaîne latérale d'un α -aminoacide
aromatique, selon le schéma réactionnel suivant:

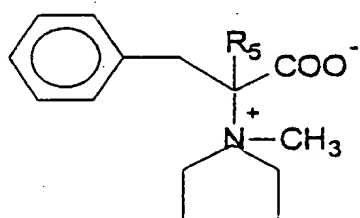
35



15 - X représentant un atome d'halogène, de préférence l'iode,

- R_4 étant tel que défini ci-dessus.

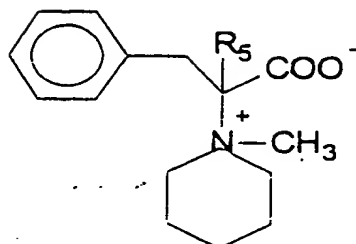
Ainsi, on peut préparer le composé de formule



par réduction, à l'aide d'hydrogène et en présence de palladium sur charbon, d'un mélange de L-phényl-alanine et d'aldéhyde succinique sous forme de solution aqueuse dans un mélange eau/méthanol ; après séparation du catalyseur par filtration, l'isolement du produit obtenu est réalisé après évaporation du solvant; après purification du produit obtenu par recristallisation dans l'éthanol, il est traité par une molécule d'iodométhane en présence de carbonate de potassium.

35

Par ailleurs, le composé de formule



5 peut être préparé de la même façon que précédemment en utilisant, à la place de l'aldéhyde succinique, du
10 glutaraldéhyde.

On peut préparer les composés de formule (I'') dans laquelle R₃ = R₄ de la manière suivante.

La L-proline (n=1) ou l'acide L-pipécolique (n=2) sont traités par au moins deux équivalents d'halogénure d'alkyle
15 de formule RX dans laquelle:

R = R₃ = R₄ et X = Cl, Br ou I

dans un mélange hydrométhanolique en présence de deux équivalents de carbonate de potassium. Après agitation à température ordinaire pendant 10 heures, on évapore le
20 solvant puis on recristallise le résidu obtenu dans l'éthanol.

On peut préparer les composés de formule (I'') dans laquelle R₃ est différent de R₄ de la manière suivante.

La L-proline ou l'acide L-pipécolique sont traités par
25 un équivalent d'aldéhyde de formule R₃-CHO (dans laquelle R₃ est comme défini plus haut) en présence d'hydrogène et de palladium sur charbon.

Après alkylation réductrice, l'α-aminoacide N-alkylé par le radical R₃ est obtenu par évaporation du solvant et
30 recristallisation dans l'éthanol. Au préalable, le palladium sur charbon a été séparé par filtration.

L'α-aminoacide N-alkylé est alors quaternisé par un équivalent d'halogénure d'alkyle de formule R₄X dans laquelle X = Br, Cl ou I, et R₄ est tel que défini plus haut
35 dans une solution hydrométhanolique en présence d'un

équivalent de carbonate de potassium.

Les produits obtenus sont séparés par évaporation des solvants puis purifiés par recristallisation dans l'éthanol.

Le composé de formule (I), (I') ou (I'') est
5 avantageusement utilisé sous la forme de zwitterion ou sous la forme du sel de la fonction ammonium, le contre ion étant alors choisi dans le groupe comprenant F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , $R_6SO_3^-$, R_7COO^- , avec R_6 et R_7 représentant notamment des radicaux alkyle, arylalkyle ou phényle éventuellement
10 substitués ; de préférence le contre ion est choisi dans le groupe comprenant Cl^- , I^- et NO_3^- ; le composé de formule (I), (I') ou (I'') peut également être mis en œuvre sous forme de complexe avec un sel minéral tel que IK.

Selon un mode de réalisation avantageux, le composé
15 comportant la structure bêtaïne ou bêtaïnoïde, est utilisé seul ou en combinaison avec au moins un autre produit phytosanitaire ou un agent fongicide ou insecticide. De façon particulièrement avantageuse, l'utilisation selon l'invention est réalisée par application foliaire.

20 L'invention pourra être bien comprise à l'aide du complément de description qui suit et des exemples non limitatifs qui sont donnés en rapport avec des modes de réalisation avantageux.

Se proposant, par conséquent, de stimuler la
25 germination des grains de pollen, on s'y prend comme suit ou de façon équivalente.

On traite les plantes dont il s'agit de stimuler la germination des grains de pollen à l'aide d'une composition pour application notamment foliaire comprenant, outre les
30 véhicules et constituants classiques de ce genre de compositions, au moins un composé comportant la structure bêtaïne ou bêtaïnoïde et notamment de formule (I), (I') ou (I'').

Ce traitement est réalisé au moment de la floraison et
35 plus précisément au moment de la pollinisation.

Il est mis en œuvre, de préférence, avant ou durant la période correspondant à l'ouverture des anthères.

Il peut être effectué par pulvérisation d'une composition comprenant une quantité efficace d'au moins un
5 des composés de formule (I), (I') ou (I").

Il est possible d'avoir recours à une seule pulvérisation; toutefois, il peut être avantageux de la renouveler au moins une fois; dans ce cas, la première pulvérisation est avantageusement effectuée dès l'apparition
10 des premières fleurs ; dans le cas des arbres fruitiers, la deuxième application est effectuée 8 à 15 jours plus tard.

Le moment précis sera choisi en fonction de la plante traitée.

Celle-ci pourra être constituée par toute plante
15 d'intérêt agronomique ou ornemental pour laquelle la fécondation fait appel soit à un mécanisme de pollinisation croisée (désignée par le terme allopollinisation), soit à un mécanisme de pollinisation directe (désignée par le terme autopollinisation) dans lesquels le pollen et le stigmate
20 intéressés appartiennent à un même individu. Les plantes qui ne sont pas visées par la présente invention sont celles dont les enveloppes externes des fleurs ne s'ouvrent pas et dans lesquelles la pollinisation s'effectue en quelque sorte à huis clos, le pollen n'étant pas mis en liberté et germant
25 directement dans l'anthère; c'est le cas des fleurs cléistogames.

De bons résultats peuvent être obtenus in vitro avec les pollens de plantes aussi diverses que

- le tabac,
- 30 - les plantes légumières telles que les carottes, tomates, choux-fleurs et pommes de terre,
- des arbres fruitiers tels que le pommier, le cerisier et le prunier,
- les plantes oléagineuses telles que le soja, le
35 tournesol et le colza,

- des céréales telles que le maïs,
- des fleurs telles que le lis.

L'invention porte également sur des compositions de stimulation de la germination des graines de pollen qui
5 comportent, outre les constituants et véhicules classiques, de 5 à 6000 µg/ml, de préférence de 50 à 1500 µg/ml et plus préférentiellement de 100 à 1000 µg/ml d'au moins un composé à structure bétaine ou bétainoïde.

Selon un mode préférentiel de réalisation de la
10 composition conforme à l'invention, le composé à structure bétaine ou bétainoïde présente la formule (I), (I') ou (I").

Lorsque la composition est appliquée sous forme liquide, le composé de formule (I), (I') ou (I") est
15 incorporé dans une composition sous forme liquide ou pulvérulente.

Le véhicule est généralement l'eau.

Il est toutefois possible d'avoir recours, en lieu et place de l'eau, à un véhicule choisi dans le groupe comprenant les huiles minérales, les huiles végétales, tous
20 corps gras liquides et les alcools dont notamment le propylèneglycol ou la glycérine.

Les constituants classiques essentiels qui pourront être associés au composé de formule (I), (I') ou (I") sont fonction de la matière active et des plantes traitées; ils
25 sont choisis généralement dans le groupe comprenant des charges solides, des solvants, des agents tensioactifs, des agents dispersants et des agents émulsifiants.

Lorsque la composition est appliquée sous forme de poudre, le véhicule est avantageusement constitué par une
30 charge notamment minérale.

Cette charge peut être choisie dans le groupe comprenant le kaolin, l'argile finement dispersée et le talc.

Les constituants classiques qui peuvent être inclus
35 dans la composition se présentent sous forme de poudre et

sont généralement choisis dans le groupe comprenant les dextrans.

Il est à noter que les compositions sous forme de poudre sont diluées, au moment de l'emploi, dans un véhicule
5 constitué notamment par l'eau.

Les compositions dans lesquelles est présent le composé de formule (I), (I') ou (I'') peuvent se présenter sous forme d'engrais liquides en combinaison éventuellement avec un ou plusieurs oligo-éléments correcteurs de carence qui peuvent
10 être choisis dans le groupe comprenant les sels de molybdène et de manganèse.

EXEMPLES

15 EXEMPLE 1

Préparation de la L-phénylalanine bêtaïne.

Dans un réacteur d'un volume minimum de 25 litres et balayé par un courant de gaz inerte tel que l'azote ou l'argon, on introduit dans l'ordre suivant:

- 20 - 1 kg de L-phénylalanine,
- 80 g de palladium sur charbon à 5%,
- 2,5 l de solution aqueuse de formol à 37%,
- 10 l de méthanol technique.

On élimine alors le gaz inerte du réacteur en lui
25 appliquant un léger vide puis on le remplit d'hydrogène jusqu'à l'obtention d'une pression d'environ 1,1 bar.

On agite fortement la préparation obtenue tout en maintenant une pression d'hydrogène de 1,1 bar. L'évolution de la réaction est suivie par mesure de la quantité
30 d'hydrogène absorbée en fonction du temps. La réaction est conduite à la température ambiante.

Temps (en heures)	Volume absorbé (en litres)
0,5	37,5
1	67
2	100
3	120
4	140
7	170
9	180

L'agitation est maintenue pendant au moins 48 heures, temps au bout duquel il n'y a plus d'absorption d'hydrogène.

5 On arrête alors l'alimentation en hydrogène puis le catalyseur est séparé par filtration sur Büchner. On récupère le filtrat (environ 13,5 l) que l'on introduit dans un réacteur agité à double enveloppe de 25 l.

10 On ajoute à cette solution agitée à température ordinaire 420 g de carbonate de potassium puis, goutte à goutte, en 30 minutes, 1 kg de iodométhane.

Dès la fin de l'addition, on agite à température ordinaire pendant 18 heures. On évapore les solvants et réactifs à 90°C sous vide de 30 mbars jusqu'à obtenir dans
15 le fond du réacteur un solide blanc. On ajoute à ce solide 4,5 l d'éthanol absolu technique que l'on porte à reflux pendant au moins 2 heures.

Le produit passe en solution qui devient limpide. Si celle-ci est trouble, on la filtre sur verre fritté. On
20 laisse la solution revenir à température ordinaire et la L-phénylalanine bêtaïne cristallise.

Le produit cristallin est séparé par filtration sur Büchner, lavé par de l'acétone puis par de l'heptane, puis séché sous vide. On obtient ainsi 1,5 kg (83%) de complexe
25 L-phénylalanine bêtaïne iodure de potassium d'une pureté supérieure à 95%.

EXEMPLE 2Procédé de préparation à partir d'algues brunes d'un extrait d'algues désigné par GR 39 .

On soumet 690 g d'algues fraîches de type *Laminaria*
5 *digitata* à une extraction en présence de 1 litre d'acide
sulfurique 0,1 M. L'extraction est réalisée au bain-marie à
70°C pendant 2 h.30 sous agitation.

Après clarification du milieu par filtration sur des
filtres de marque SEITZ, de porosité 1 µm, le liquide obtenu
10 est soumis à une ultrafiltration tangentielle sur une
membrane tubulaire carbone-céramique de type "Carbosep" de
porosité 300.000 Daltons. L'opération est réalisée en
maintenant une pression transmembranaire de 5 bars.

On obtient ainsi un filtrat présentant un volume
15 d'environ 0,9 litre et de pH 2 à 2,5. On neutralise le
produit par addition d'une solution de soude 1 M jusqu'à pH
entre 6 et 7.

Le filtrat neutralisé est ensuite soumis à une
ultrafiltration tangentielle grâce à un système Pellicon
20 commercialisé par la Société Millipore équipé d'une cassette
de porosité 3000 Daltons associée à une pompe PROCON
également commercialisée par la Société Millipore. Le
filtrat ainsi obtenu est ensuite lyophilisé et on obtient
ainsi 8 g de poudre sèche correspondant à l'extrait GR 39.

25 La teneur en L-phénylalanine bêtaïne dans l'extrait GR
39 est de 0,03 ppm \pm 0,01 ppm (ppm signifiant partie par
million, soit mg/kg).

30

Le principe des tests in vitro dont il a été question
plus haut consiste à faire germer des grains de pollen d'une
plante donnée au sein d'une solution aqueuse de la substance
phytoactive que l'on teste du point de vue de ses activités
35 stimulatrices de la germination.

Dans les tests décrits ci-après réalisés in vitro, la substance phytoactive est un composé à structure bétaine ou bétainoïde.

On a plus particulièrement examiné les effets obtenus
5 avec le L-phénylalanine bétaine et avec l'extrait GR 39.

Il est important de veiller à ce que l'eau dans laquelle sont effectuées les expériences soit d'une très grande pureté; le degré de pureté minimum peut être caractérisé par une résistivité supérieure à 10. mega- Ω x cm.

10 On décrit ci-après lesdits tests dans leur application à une plante donnée, à savoir le tabac.

On récolte des grains de pollen de *Nicotiana tabacum* à partir d'anthères juste déhiscentes sur des fleurs bien épanouies; chaque fleur possède cinq anthères.

15 Pour cette récolte, on détache les anthères de leurs filaments; quatre anthères sont identiques au point de vue longueur de filament; la cinquième qui a un filament plus court n'est pas utilisée par souci d'homogénéité.

On travaille dans le champ de vision d'une loupe
20 binoculaire, ce qui permet d'effectuer les manipulations avec plus de précision ; on enlève, après les avoir disposées dans un verre de montre rempli d'une eau répondant aux susdites conditions de pureté, les parois des anthères pour libérer les grains de pollen.

25 On nettoie les grains de pollen par trois ou quatre lavages à l'aide de la même eau pure.

On laisse décanter et on élimine ceux des grains qui flottent.

On élimine l'excès d'eau et on obtient une suspension
30 de grains de pollen désignée par "SP".

Dans une première série d'expériences, on a préparé des solutions aqueuses de concentrations croissantes de L-phénylalanine bétaine ; ces concentrations croissantes sont de 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$,
35 1000 $\mu\text{g/ml}$, 1500 $\mu\text{g/ml}$, 2000 $\mu\text{g/ml}$, 2500 $\mu\text{g/ml}$, 3000 $\mu\text{g/ml}$,

4000 µg/ml, 5000 µg/ml, 6000 µg/ml.

Du point de vue pratique, on utilise des plaques de titration comportant par exemple 6 rangées de 4 puits ayant un diamètre de 1 cm et une profondeur de 1 cm.

5 On introduit dans chaque puits un volume de 1000 µl d'une solution qui comporte le composé à tester à l'une des susdites concentrations.

On ajoute également dans chaque puits un volume de 30 µl de la suspension "SP".

10 Le mélange est homogénéisé.

C'est à l'intérieur des puits des plaques de titration que se produit la germination des grains de pollen et que l'on étudie l'activité stimulatrice du composé à structure bêtaïne.

15 Chaque expérience est réalisée au moins cinq fois et chaque fois on procède à deux répétitions.

En même temps, on réalise deux expériences témoin.

Une première expérience témoin est effectuée dans l'eau répondant aux susdites conditions de pureté, c'est-à-dire
20 directement sur la suspension "SP". Cette expérience est en fait destinée à contrôler la pureté de l'eau utilisée; en effet, dans une eau répondant aux susdites conditions de pureté, aucune germination ne se produit.

Une deuxième expérience témoin est effectuée en
25 utilisant un tampon de germination comportant dans de l'eau ayant la susdite pureté

- du saccharose à raison de 12% en poids,
- de l'acide borique à raison de 0,01% en poids,
- du chlorure de calcium dihydrate à raison de 0,03% en
30 poids.

Il est connu que dans ce tampon la germination des grains de pollen est optimale.

Les plaques de titration sont ensuite maintenues à l'obscurité à une température de 22°C à 24°C.

35 Une première observation est faite sous la loupe

binoculaire 5 à 6 heures, une deuxième 24 heures et une troisième 36 heures après le début de l'expérience.

A chacune des observations, on apprécie un certain nombre de paramètres, à savoir:

- 5 - la densité des grains de pollen en train de germer,
- la longueur du tube pollinique, cette appréciation étant facilitée par l'utilisation d'une loupe binoculaire comportant un étalon interne,
- l'intensité de l'agglutination des grains de pollen,
- 10 et
- la lyse de ces grains.

Il se trouve que ces paramètres sont difficilement quantifiables, même pour ce qui est de la longueur des tubes polliniques étant donné que ceux-ci ne sont pas toujours
15 rectilignes.

Comme indiqué plus haut, la germination des grains de pollen est dans le cas de l'expérience témoin effectuée avec le tampon de germination optimale ; on caractérise cette germination optimale par le symbole ++++.

20 Pour traduire l'intensité de la stimulation dans le cas des tests effectués à l'aide de la L-phénylalanine bêtaïne aux différentes concentrations, il est convenu que:

- lorsqu'il n'y a aucune stimulation, l'activité est considérée comme étant nulle et elle est caractérisée par le
25 symbole -,
- lorsque la stimulation est comparable à celle constatée pour le témoin de germination, elle est également caractérisée par le symbole ++++,
- lorsque les stimulations se traduisent par une
30 germination d'une partie des grains de pollen, on les caractérise suivant l'intensité par ordre croissant par les symboles ε, +, ++ et +++.

Dans le cas du tabac, les concentrations optimales déterminées pour la L-phénylalanine bêtaïne sont de
35 100 µg/ml à 2000 µg/ml, avec une activité maximale pour 1000

µg/ml.

Dans une deuxième série d'expériences, on a effectué les mêmes tests toujours sur le tabac, en remplaçant la L-phénylalanine bêtaïne par l'extrait GR 39 obtenu
5 conformément à l'exemple 2. Cet extrait a été mis en œuvre selon le même protocole et aux mêmes concentrations que la L-phénylalanine bêtaïne.

Les activités ainsi trouvées pour la L-phényl-alanine bêtaïne et pour l'extrait GR 39 sont réunies dans le
10 tableau A.

TABLEAU A

Concentration en µg/ml	4000	3000	2000	1000	500	100	50
L-phénylalanine bêtaïne préparée selon l'exemple 1 et purifiée à 98%	-	-	+++	++++	+++	++	ε +
GR 39 préparé selon l'exemple 2	++	++	+++	+	+	ε	ε

L'examen des résultats réunis dans le tableau A montre que la L-phénylalanine bêtaïne est active à une
15 concentration de 100 à 2000 µg/ml, alors que l'extrait GR 39 est moins actif à ces concentrations mais conserve une certaine activité à des concentrations supérieures.

Les essais en plein champ qui sont en cours confirment l'activité stimulatrice de la germination des grains de
20 pollen.

Il devient donc possible d'augmenter le rendement des récoltes des plantes agronomiques par la stimulation de la germination des grains de pollen en appliquant aux dites
25 plantes des compositions comportant à titre de matière active au moins l'un des composés à structure bêtaïne ou bêtaïnoïde dont il est question ci-dessus.

On donne ci-après quelques exemples des compositions du genre en question.

EXEMPLE 3**Composition à usage agricole à base de L-Phénylalanine bêtaïne.**

Dans cette composition, la L-Phénylalanine bêtaïne se
5 trouve associée à des oligo-éléments sous forme d'engrais
liquide.

Pour 1 kg en poids/poids, cette composition est
constituée de :

	Sulfate de magnésium, 7H ₂ O	0,3010 kg
10	Sulfate de manganèse, 1H ₂ O	0,0510 kg
	Sulfate de zinc, 7H ₂ O	0,1060 kg
	L-phénylalanine bêtaïne	0,0500 kg
	Tween 80	0,0050 kg
	Eau	0,4870 kg
15	_____	1,0000 kg

Cette composition peut être utilisée à la dose de
3 litres/ha au stade floraison sur des arbres fruitiers.

20

EXEMPLE 4**Composition à usage agricole à base
de L-Phénylalanine bêtaïne.**

Cette composition soluble se présente sous forme de
poudre contenant la matière active en association avec du
25 molybdène.

Pour 1 kg en poids/poids, cette composition est
constituée de :

	Molybdate de sodium	0,010 kg
	L-Phénylalanine bêtaïne	0,100 kg
30	Kaolin	0,890 kg
	_____	1,000 kg

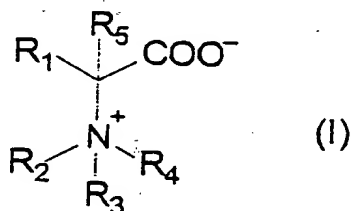
Cette composition pourra être utilisée après
35 dissolution dans l'eau à raison de 10 g/l à la dose de

1 kg/ha et pulvérisée au moment de la floraison, sur des plantes légumières.

REVENDICATIONS

1. Utilisation pour la stimulation de la germination des grains de pollen des plantes agronomiques d'une quantité efficace d'au moins un composé comportant la structure bétaine ou bétainoïde, ledit composé étant différent de la glycine bétaine.

2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée par le fait que le composé comportant la structure bétaine ou bétainoïde est représenté par la formule :



dans laquelle:

- R_1 représente une chaîne latérale d'un α -amino-acide naturel,

- R_2 , R_3 , R_4 représentent des radicaux alkyles identiques ou différents, saturés ou insaturés, ramifiés ou non, comportant de 1 à 16 atomes de carbone et éventuellement un ou des noyaux aromatiques ou hétérocycliques,

- R_5 représente l'atome d'hydrogène ou un radical alkyle saturé ou insaturé, ramifié ou non, comportant de 1 à 5 atomes de carbone, ce radical alkyle pouvant porter des fonctions monovalentes notamment des hydroxyles et des halogènes ainsi que des fonctions divalentes, notamment des carbonyles,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 et R_5 , lorsqu'il est différent de H, pris deux à deux, pouvant former des cycles ayant de 3 à 10

chaînon, ces cycles pouvant comporter au moins un hétéroatome à l'exception de la glycine bêtaïne.

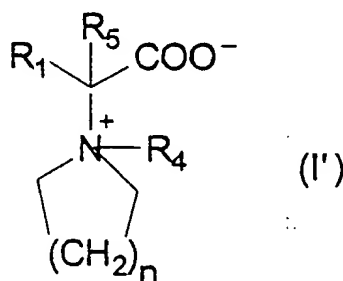
3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée par le fait que le composé comportant la structure bêtaïne ou bêtaïnoïde est représenté par la formule (I), dans laquelle :

- R_1 représente la chaîne latérale d'un α -amino-acide aromatique choisi dans le groupe comprenant les radicaux phénylalkylène, hydroxyphénylalkylène et indolyl-alkylène ayant de 1 à 5 atomes de carbone, le radical aminopropyle et le radical aminobutyle,

- R_2 , R_3 et R_4 sont des radicaux alkyles identiques ou différents ayant de 1 à 3 atomes de carbone et

- R_5 représente l'atome d'hydrogène.

4. Utilisation selon l'une des revendications 2 ou 3, caractérisée par le fait que le composé comportant la structure bêtaïne ou bêtaïnoïde présente la formule (I') suivante :



dans laquelle:

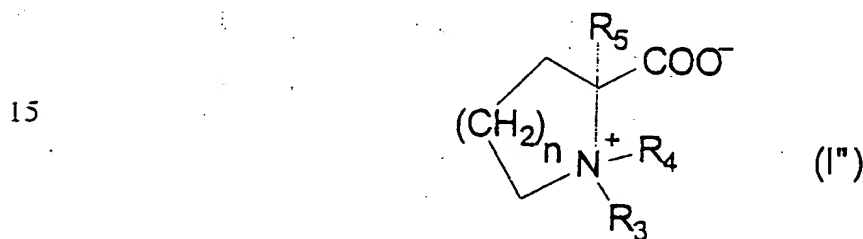
- n est un nombre entier de 1 et 10, de préférence $n = 2$ ou $n = 3$ et

- R_1 , R_4 et R_5 sont tels que définis à la revendication 1.

5. Utilisation selon l'une quelconque des

revendications 2 à 4, caractérisée par le fait que, dans le composé de formule (I) ou (I'), R_1 représente la chaîne latérale d'un α -aminoacide aromatique choisi dans le groupe comprenant les phénylalkylènes, hydroxyphényl-alkylènes et indolylalkylènes ayant de 1 à 5 atomes de carbone ou un radical aminopropyle ou aminoéthyle.

6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, caractérisée par le fait que le composé comportant la structure bêtaïne ou bêtaïnoïde présente la formule (I') suivante :



20 dans laquelle:

- n est un nombre entier compris entre 1 et 10, de préférence $n = 1$,

- R_3 , R_4 et R_5 sont tels que définis à la revendication 1.

25

7. Utilisation selon la revendication 1, caractérisé par le fait que le composé présentant la structure bêtaïne est choisi dans le groupe comportant la L-tyrosine bêtaïne, la L-tryptophane bêtaïne, la L-lysine bêtaïne, la L-arginine bêtaïne, la L-lysine (quaternisée au niveau de l'azote en position 5)-bêtaïne, la L-arginine (quaternisée au niveau d'un azote du résidu guanidine)-bêtaïne.

8. Utilisation selon la revendication 1, caractérisé par le fait que le composé comportant la structure bêtaïne

ou bétainoïde est la L-phénylalanine bétaine.

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 à 8, caractérisé par le fait que le composé de formule (I), (I') ou (I'') est appliqué sous la forme de zwitterion ou sous la forme du sel de la fonction ammonium, le contre ion étant choisi dans le groupe comprenant NO_3^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , R_6SO_3^- et R_7COO^- , R_6 et R_7 représentant notamment des radicaux alkyle, arylalkyle ou phényle éventuellement substitués, de préférence Cl^- , I^- et NO_3^- .

10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée par le fait qu'elle est réalisée par application foliaire.

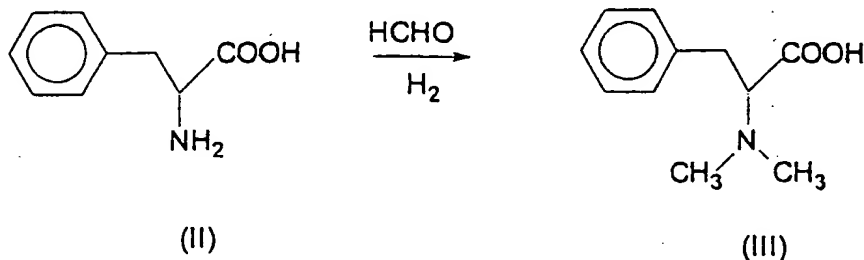
15

11. Composition de stimulation de la germination des grains de pollen comprenant, outre les constituants et véhicules chimiques 5 à 6000 $\mu\text{g/ml}$, de préférence 50 à 1500 $\mu\text{g/ml}$ et plus préférentiellement encore de 100 à 1000 $\mu\text{g/ml}$ d'au moins un composé à structure bétaine ou bétainoïde, de préférence au moins un des composés utilisé selon l'une quelconque des revendications 2 à 10.

12. Procédé de préparation de L-phénylalanine bétaine caractérisé par le fait qu'il comprend :

- une étape de N-diméthylation de la L-phénylalanine (II) à l'aide d'hydrogène et de formol selon le schéma réactionnel :

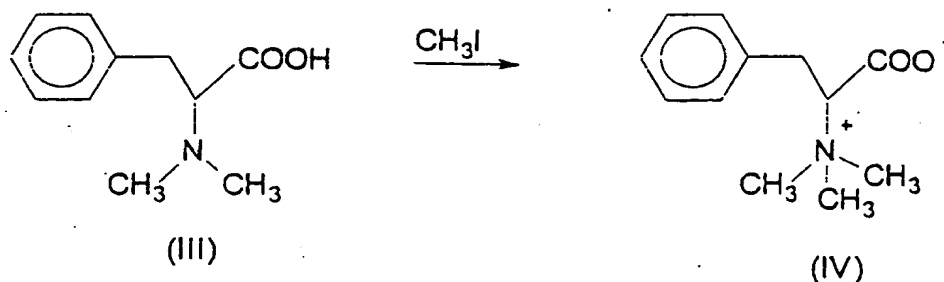
30



35

- une étape de méthylation du produit (III) obtenu à l'étape précédente à l'aide d'iodure de méthyle selon le schéma réactionnel :

5



10

- une étape de purification de la L-phénylalanine bétaine (IV) obtenue à l'étape précédente, cette étape de purification comprenant une recristallisation notamment par l'éthanol, puis un lavage par de l'acétone puis par de l'heptane.

15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 00/00370

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

CIB 7 A01N37/44

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

CIB 7 A01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CHEM ABS Data, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	<p>DATABASE CABA 'en ligne! TALWAR ET AL.: "Physiological basis of heat tolerance during flowering and pod setting stages in groundnut (Arachis hypogaea L.)" XP002121304 abstract & JIRCAS WORKING REPORT, vol. 14, 1999, pages 47-65, Meeting Info.: proceedings of a workshop on heat tolerance of crops, Okinawa, Japan, 7-9 October 1997</p> <p>WO 96 23413 A (AB TALL PTY. LTD.) 8 August 1996 (08.08.96) page 5, line 7 - line 15</p> <p style="text-align: center;">-/-</p>	<p>1-11</p> <p>11</p>

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 July 2000 (05.07.00)

Date of mailing of the international search report

21 July 2000 (21.07.00)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 00/00370

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 08951 A (CULTOR OY) 13 March 1997 (13.03.97) example 4	11
X	R.E. BOWMAN ET AL. : "N-substituted amino-acids. Part.I. A new method of preparation of dimethylamino-acids" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY C, 1950, pages 1342-1345, XP002141838 page 1343 -page 1344	12
X	DAYAR ARBAIN ET AL.: "The determination of chirality of N-Methyl- and N,N-Dimethyl-phenylalanine by GLC" AUST. J. CHEM., vol. 44, nr. 6, 1991, pages 887-890, XP000923048 page 889	12
A	GOLDBERG: "Betaines derived from amino and hydrazino acids as phase transfer catalysts" TETRAHEDRON, vol. 46, nr. 6, 1990, pages 1911-1922, XP002121303	
A	IYENGAR ET AL.: "Thermodynamic view of hydrophobic association of side chains of aromatic amino acids" INDIAN JOURNAL OF CHEMISTRY, SECT.A, vol. 28, nr. 6, 1989, pages 445-451, XP000922944	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 00/00370

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see extra sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/FR 00/00370

The International Searching Authority found several (groups of) inventions in the international application, namely:

1. Claims: 1-11

Composition stimulating the germination of pollen grains using a compound comprising the betaine or betainoid structure and use of such a compound excluding glycine betaine for stimulating germination of pollen grains.

2. Claim: 12

Method for preparing L-phenylalanine.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/00370

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9623413 A	08-08-1996	AU 703407 B	25-03-1999
		AU 4531496 A	21-08-1996
		BR 9607020 A	28-10-1997
		CA 2212177 A	08-08-1996
		EP 0806897 A	19-11-1997
		US 5972840 A	26-10-1999
		ZA 9600836 A	19-08-1996
WO 9708951 A	13-03-1997	FI 98515 B	27-03-1997
		AU 703341 B	25-03-1999
		AU 3348095 A	27-03-1997
		CN 1200650 A	02-12-1998
		EP 0863703 A	16-09-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No
PCT/FR 00/00370

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A01N37/44

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

CHEM ABS Data, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	DATABASE CABA 'en ligne! TALWAR ET AL.: "Physiological basis of heat tolerance during flowering and pod setting stages in groundnut (Arachis hypogaea L.)" XP002121304 abrégé & JIRCAS WORKING REPORT, vol. 14, 1999, pages 47-65, Meeting Info.: proceedings of a workshop on heat tolerance of crops, Okinawa, Japan, 7-9 October 1997	1-11
X	WO 96 23413 A (AB TALL PTY. LTD.) 8 août 1996 (1996-08-08) page 5, ligne 7 - ligne 15 -/-	11

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

5 juillet 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

21 07. 2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Fort, M

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 00/00370

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 97 08951 A (CULTOR OY) 13 mars 1997 (1997-03-13) exemple 4	11
X	R.E. BOWMAN ET AL. : "N-substituted amino-acids. Part.I. A new method of preparation of dimethylamino-acids" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY C, 1950, pages 1342-1345, XP002141838 page 1343 -page 1344	12
X	DAYAR ARBAIN ET AL.: "The determination of chirality of N-Methyl- and N,N-Dimethyl-phenylalanine by GLC" AUST. J. CHEM., vol. 44, no. 6, 1991, pages 887-890, XP000923048 page 889	12
A	GOLDBERG: "Betaines derived from amino and hydrazino acids as phase transfer catalyts" TETRAHEDRON, vol. 46, no. 6, 1990, pages 1911-1922, XP002121303	
A	IYENGAR ET AL.: "Thermodynamic view of hydrophobic association of side chains of aromatic amino acids" INDIAN JOURNAL OF CHEMISTRY, SECT.A, vol. 28, no. 6, 1989, pages 445-451, XP000922944	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR 00/00370

Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n°s se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☐ Les revendications n°s se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n°s sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☒ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°s
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°s

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☒ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-11

Composition de stimulation de la germination des grains de pollen utilisant un composé comportant la structure bétaine ou bétainoïde et utilisation d'un tel composé à l'exclusion de la glycine bétaine pour la stimulation de la germination des grains de pollen

2. revendication : 12

Procédé de préparation de L-phénylalanine

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 00/00370

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famill de brevet(s)	Date de publication
WO 9623413 A	08-08-1996	AU 703407 B	25-03-1999
		AU 4531496 A	21-08-1996
		BR 9607020 A	28-10-1997
		CA 2212177 A	08-08-1996
		EP 0806897 A	19-11-1997
		US 5972840 A	26-10-1999
		ZA 9600836 A	19-08-1996
WO 9708951 A	13-03-1997	FI 98515 B	27-03-1997
		AU 703341 B	25-03-1999
		AU 3348095 A	27-03-1997
		CN 1200650 A	02-12-1998
		EP 0863703 A	16-09-1998

